

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1969

N°

THÈSE

266

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques, René SAVIGNARD

né le 30 Novembre 1942 à Vincennes (Val de Marne)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

CONTRIBUTION A L'ETUDE CYTOLOGIQUE
ET IMMUNOLOGIQUE DU LIQUIDE SYNOVIAL
DANS LA MALADIE RHUMATOIDE

Président : Mr. DE SEZE, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1969

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques, René SAVIGNARD

né le 30 Novembre 1942 à Vincennes (Val de Marne)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE CYTOLOGIQUE
ET IMMUNOLOGIQUE DU LIQUIDE SYNOVIAL
DANS LA MALADIE RHUMATOÏDE

Président : Mr. DE SEZE, Professeur

TABLEAU DE MÉDECINE DE PARIS

THESE

DOCTORAT EN MÉDECINE

UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

Monsieur, Docteur en Médecine

et en Philosophie, etc. etc. etc.



PRESENTED TO THE LIBRARY

EXAMINATION A L'UNIVERSITÉ DE PARIS
LE 15 MARS 1880
PAR LE JURY

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE(T), BENARD(H), BERNARD(E), BINET(L), BULLIARD(H), CATHALA(J),
CHABROL(E), CHAILLEY-BERT(P), CHEYMOL(J), COSTE(F), DEBRE(R), DECHAUME(M),
GALIARD(H), GAUDART d'ALLAINES(F. de), GENNES (L. de), GIROUD(A), HAZARD(R),
HEUYER(G), LACOMME(M), LAMY(M), LAROCHE(G), LELONG(M), LEVY(Melle J.), LEVY-
SOLAL(E), LIAN(C), MADURO(R), MARCHAL(G), MATHIEU(P), MONOD(R), MOREAU(R),
MOULONGUET(P), PASTEUR-VALERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS(D), PIEDELIEVRE(R),
QUENU(J), RENARD(G), SENEQUE(J), STROHL(A), TANON(L), TURPIN(R), VERNE(J).

DOYEN Georges BROUET
1er ASSESSEUR Daniel BARGETON
2° ASSESSEUR Jean GOSSET

A- CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

Anatomie DELMAS (A)
- HUARD (P)
- à titre personnel CABROL (Ch)
- " " OLIVIER (G)

Anatomie et Cytologie pathologiques DELARUE (J)
à titre personnel NEZELOF (Ch)
" " " ORCEL (L)

Biochimie médicale JAYLE (M-F)
" " DESGREZ (P)
" " POLOVOSKY (J)

Chimie pathologique SCHAPIRA (G)
à titre personnel CARTIER (P)
" " " DREYFUS (J-C1)

Biologie médicale (à titre personnel) BOURLIERE (F)
" " " HARTMANN (L)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552220_0041

	MM.
Biophysique médicale	BUGNARD (L)
" "	DJOURNO (A)
" "	DOGNON (A)
à titre personnel	KELLERSHOHN (L)
" " "	GOUGEROT (L)
" " "	ROUCAYROL (J-C1)
Cancérologie expérimentale	MATHE (G)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J)
Histologie et Embryologie	COUJARD (R)
" "	TUCHMANN-DUPLESSIS (R)
à titre personnel	RACADOT (J)
Microbiologie	FASQUELLE (R)
Bactériologie et Virologie	TOURNIER (P)
à titre personnel	BARBIER (P)
Parasitologie	LARIVIERE (M)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F-P)
à titre personnel	LOEPER (J)
Pharmacologie	BOISSIER (J-R)
"	LECHAT (P)
Physiologie	BARGETON (D)
"	MALMEJAC (J)
"	PARROT (J)
à titre personnel	DEJOURS (P)
Physiologie et Biologie appliquées aux sports	SCHERRER (J)

B- CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

I / MEDECINE

Biologie Médicale	FAUVERT (R)
Histoire de la Médecine et de la Chirurgie	COURY (Ch)
Hygiène et Médecine préventive	BOYER (J)
Médecine du Travail	DESOILLE (H)
Médecine Légale, Droit médical et Déontologie	DEROBERT (L)
Pathologie exotique	BRUMPT (L-C)
Pathologie Médicale	BUGE (A)
" " 	BRICAIRE (H)
" " 	CORNET (A)
" " 	NOUSSET (E)
" " 	LAROCHE (Cl)
à titre personnel	AZERAD (E)
" " 	BOUR (H)
" " 	BROCARD (H)
" " 	CAROLI (J)
" " 	FACQUET (J)
" " 	LAMBLING (A)
" " 	LAUNAY (Cl)
" " 	PAYET (M)
" " 	PERRAULT (M)
" " 	SIGUIER (F)
" " 	WORMS (R)
" " 	BOUVIER (J)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J)
Pathologie et Thérapeutique générales	MAURICE (P)
Thérapeutique	LAMOTTE (M)
Thérapeutique appliquée	MARCHE (J)

Chaires de Clinique:

MM.

Clinique Cardiologique (Boucicaut)	LENEGRE (J)
" " (Broussais)	SOULIE (P)
Clinique Dermatologique (Saint Louis)	DUPELLOUAT (F)
Clinique des Maladies cutanées et syphilitiques (St Louis)	DEGOS (R)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J)
Clinique des maladies infectieuses (Claude Bernard)	MOLLARET (P)
" à titre personnel	BASTIN (R)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste Anne)	DELAY (J)
à titre personnel (neuro-psychiatrie)	PICHOT (P)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière) ...	CASTAIGNE (P)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R)
à titre personnel	LHERMITTE (F)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile	MICHAUX (L)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	BERNARD (J)
à titre personnel (Hématologie)	ANDRE (R)
" "	BOUSSER (J)
" "	DREYFUS (B)
(Bicêtre	DEPARIS (M)
(Broussais	MILLIEZ (P)
(Cochin	PEQUIGNOT (H)
Cliniques Médicales (Hôtel-Dieu	BARIETY (M)
(Pitié	DREYFUS (G)
(Saint-Antoine	BOUDIN (G)
(" "	CONTE (M)
(" "	KOURILSKY (R)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A)

MM.

Clinique et Séméiologie médicales (Antoine Chantin)	DOMART (A)
Séméiologie médicale (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y)
" " (Pitié)	RAMBERT (P)
" " (Rothschild)	WOLFROMM (K)
Clinique d'Hydrologie et de Climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch)
à titre personnel	GIBERTON (A)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques	DEROT (M)
Clinique néphrologique (Necker)	HAMBURGER (J)
à titre personnel	RICHET (G)
" " 	CROSNIER (J)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	ROYER (P)
Clinique des Maladies des Enfants (Enfants-Malades)	MOZZICONACCI (P)
Clinique médicale infantile et de pédiatrie sociale (Enfants Malades)	MAKIE (J)
Clinique de Pédiatrie (Trousseau)	BRISSAUD (H)
à titre personnel	LESOBRE (R)
Clinique de Pédiatrie et de Puériculture (St Vincent de Paul)	THIEFFRY (S)
Hygiène et Clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (K)
à titre personnel	POLONOVSKI (Cl)
Clinique de Pneumo-Phtisiologie (Laënnec).....	BROUET (G)
à titre personnel	KREIS (B)
" " 	MEYER (A)
Clinique de rééducation motrice	GROSSIORD (A)
Electroraricologie	LEDoux-LEBAUD (M)
" 	LEFEBVRE (J)

	MM.
Radiologie médicale	DESGREZ (H)
à titre personnel	FISHGOLD (H)
" "	TUBIANA (M)
" "	CHERIGIE (E)
Clinique de Rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	DELBARE (F)
Clinique rhumatologique (Lariboisière)	DE SEZE (S)
Clinique toxicologique (Fernand Widal)	GAULTIER (M)

2 / CHIRURGIE

Anesthésiologie	VOURCH (G)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G)
" "	KUSS (R)
" "	N...
à titre personnel	RAMADIER (J)
Physiologie et pathologie obstétricales	MORIN (P)
Technique chirurgicale et chirurgie expérimentale	MONSAINGEON

Chaires de Cliniques

Clinique carcinologique (Gustave Roussy)	DENOIX (P)
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H)
à titre personnel	BREHANT (J)
(Beaujon	LORTAT-JACOB (J-L)
("	BAUMANN (J)
(Cochin	LEGER (L)
Cliniques chirurgicales(Hôtel-Dieu	PATEL (J)
(Saint-Antoine	GOSSET (J)
(Salpêtrière	SICARD (A)
(Tenon	OLIVIER (Cl)

Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard	ROUX (M)
Séméiologie et clinique chirurgicale (Broussais)	POILLEUX (F)
" " " (Saint-Louis)	DEBEYRE (J)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	MERLE d'AUBIGNE
" " " " (Foch)	PADOVANI (P)
" " " " (Beaujon)	CAUCHOIX (J)
Clinique traumatologique et orthopédique (Raymond Poincaré)	JUDET (R)
Cliniques de chirurgie infantile et orthopédique (E. Malades)	FEVRE (M)
à titre personnel	CHIGOT (P-L)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	DUBOST (Ch)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Broca)	HUGUIER (J)
Clinique de chirurgie thoracique (Laënnec)	MATTEY (J)
à titre personnel	GAUDART d'ALLAINES
Clinique obstétricale (Baudelocque)	LEPAGE (F)
" " (Saint-Antoine)	MERGER (R)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J)
Clinique de neuro-chirurgie (Cochin)	BREGEAT (P)
à titre personnel	LEBEAU (J)
Clinique ophtalmologique (Cochin)	BREGEAT (P)
" " (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	CERNEA (P)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P)
" " (Necker)	COUVELAIRE (R)

C PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie	GILLOT (Cl)
Anatomie-pathologique	GOUYGOU (Ch)
Bactériologie	CHRISTOL (D)
Bactériologie	LE MINOR (L)
	(CARTIER (P)
Biochimie médicale	(GONNARD (P)
	(NORDMANN (J)
Chirurgie	CERBONNET (G)
	(BESSIS (M)
Hématologie	(BILSKI-PASQUIER (G)
	(BLANCHER (G)
Hygiène	(CORRE-HURST (Mme L.)
	(CECCAL (P)
Médecine Légale	(HADENGUE (A)
	(FOURNIER (E)
Médecine générale	AUSSANAIRE (M)
Maladies infectieuses	DUPONT (V)
Nauro-psychiatrie	TARDIEU (G)
Pédiatrie	ROSSIER (A)
	(COURSAGET (J)
Physique médicale	(GREMY (F)
	(PELLERIN (P)
	(DURAND (J)
Physiologie	(GIRARD (F)
	(HUGELIN (A)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A)
Pharmacologie	SCHMITT (H)

D- PROFESSEURS DE TACHESDANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Pathologie chirurgicale	HUDLER (J) Pr. s ch.
-------------------------------	----------------------

E- PROFESSEURS ASSOCIES

Hormonologie MORICARD (R)

Statistique médicale et épidémiologie SCHWARTZ (D)

Néphrologie MAXWELL (M)

Secrétaire général de la Faculté M. LENA (J)

Conseiller administratif Melle CHAINTREUIL (G)

Conservateur en chef de la Bibliothèque

Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine) M. le Dr. HAHN (A)

(Mme FORGET (F)

Conservateurs (Melles DUMAITRE (P), LAURENT (H) et
(LENOIR (G)

(Mme CONTET (J), Melles DUROZOY (M-F)

Bibliothécaires (ROBERGE (D), LE QUANG LINH (G) et
(REUGE (M)

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DE SEZE

qui nous a fait l'honneur de présider cette
thèse après nous avoir dispensé un enseignement
incomparable.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage
de notre profonde reconnaissance.

A Monsieur le Docteur BLOCH-MICHEL

qui nous a inspiré le sujet de cette thèse
et nous a guidé, par ses conseils, dans sa
réalisation.

Qu'il soit assuré de notre attachement et de
notre profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur BENOIST

A Monsieur le Docteur RIPAULT

Nous leur exprimons notre reconnaissance
pour l'aide qu'ils ont bien voulu nous
accorder tout au long de ce travail.

INTRODUCTION

=====

Nos connaissances immunologiques concernant la maladie rhumatoïde se sont longtemps bornées à utiliser empiriquement, comme élément diagnostique, l'activité floculante anti-Gamma G globulines du sang des malades atteints par cette maladie.

Ce n'est qu'après la découverte, quasi-simultanée, par HOLLANDER (13) et DELBARRE (7), de cellules à inclusions ou ragocytes dans le liquide articulaire, que l'attention a été attirée sur le milieu synovial.

L'intérêt, diagnostique et pathogénique, que peut présenter la connaissance de la nature de ces inclusions, a poussé nombre de chercheurs à centrer leurs efforts sur ce problème.

HOLLANDER et Coll. (13), dès leurs premiers travaux, ont proposé une hypothèse de travail donnant une importance majeure aux propriétés phagocytiques des leucocytes. Les inclusions étaient, pour ces auteurs, considérées comme le résultat de la pinocytose de complexes Facteur rhumatoïde-Gamma G globulines.

Si l'existence de phénomènes de phagocytose a été confirmée, il s'est rapidement avéré, en revanche, que le matériel phagocyté était très divers et ne consistait pas uniquement en facteur rhumatoïde.

De nombreuses études, utilisant des techniques sérologiques, histologiques ou immunologiques, ont tenté de confirmer l'hypothèse de HOLLANDER en analysant la composition des granules ragocytaires.

L'immuno-fluorescence, en particulier, semble avoir été considérée comme une méthode de choix pour aborder le problème.

C'est cette technique que nous avons retenue pour effectuer le présent travail.

Après une étude préalable des données de la littérature, nous examinerons la fréquence avec laquelle on peut mettre en évidence des Gamma G (IgG) et des Gamma M (IgM) globulines dans les cellules du liquide synovial de sujets atteints de maladie rhumatoïde.

Nous essayerons de déterminer, de plus, si l'étude du milieu synovial en immuno-fluorescence ne pourrait pas être considérée comme un élément diagnostique supplémentaire, particulièrement utile dans les formes débutantes ou séro-négatives de maladie rhumatoïde.

Ces recherches personnelles ont été effectuées dans le Centre de Rhumatologie de l'Hôpital TENON (Service du Docteur H. BLOCH-MICHEL), avec la collaboration des Laboratoires de Sérologie (Pr. agrégé DAUSSET) et d'Histologie (Pr. GOUYGOU) de l'Hôpital SAINT-LOUIS.

P L A N

=====

I/ Etat actuel des données de la littérature concernant les cellules à inclusions dans la Maladie Rhumatoïde.

- A) Recherches sérologiques
- B) Recherches en Microscopie conventionnelle
- C) Recherches en Microscopie électronique
- D) Etudes en Immuno-fluorescence

II/ Recherches personnelles

1) Techniques et méthodes utilisées au cours de cette étude

2) Détail des résultats obtenus

- A) Recherche des ragocytes
- B) Dosage du complément hémolytique dans le liquide synovial
- C) Recherche du facteur rhumatoïde dans les cellules synoviales
- D) Etude en immuno-fluorescence des cellules articulaires
 - Morphologie des aspects observés
 - Résultats de l'étude des liquides rhumatoïdes
 - Résultats de l'étude des liquides non rhumatoïdes
 - Etude de la fluorescence cellulaire en fonction de la sérologie du liquide surnageant
 - Etude comparative de la fluorescence cellulaire et de la ragocytose
 - Etude de la fluorescence cellulaire en fonction de l'histologie de la membrane synoviale.

III/ Analyse comparative des résultats obtenus avec ceux de la littérature Commentaires

IV/ Conclusions

ETAT ACTUEL DES DONNEES DE LA LITTERATURE CONCERNANT LES CELLULES A INCLUSIONS DANS LA MALADIE RHUMATOIDE

Nous allons envisager, au cours de ce chapitre, les différentes méthodes utilisées depuis quelques années pour essayer de déterminer la nature des inclusions ragocytaires, et leurs résultats.

A) RECHERCHES SEROLOGIQUES

a) Recherche du facteur rhumatoïde dans les cellules à inclusions

ASTORGA et BOLLET (1), afin de vérifier l'hypothèse de HOLLANDER, ont recherché le facteur rhumatoïde dans les cellules à inclusions.

Ils ont examiné, dans ce but, 70 malades atteints d'arthrite rhumatoïde.

Des ragocytes furent trouvés dans le liquide synovial de tous les malades. Le pourcentage de cellules à inclusions, par rapport au nombre total de cellules, varia de 3 à 56 %. Les inclusions étaient habituellement retrouvées dans les polynucléaires, plus rarement dans les histiocytes.

La technique utilisée par les auteurs, pour essayer de prouver la présence de facteur rhumatoïde dans ces granulations, consista à soumettre les ragocytes à l'action d'ultra-sons, afin de briser les parois cellulaires et libérer ainsi le facteur rhumatoïde dans le milieu synovial.

Des lavages répétés en sérum physiologique furent préalablement effectués, pour éliminer des causes d'erreurs dues à l'adsorption de facteur rhumatoïde sur les membranes leucocytaires.

Le test au Latex sur lame fut positif dans 66 des 70 liquides où les ragocytes avaient été trouvés, soit dans 94 % des cas.

Dans 4 cas, malgré la présence de ragocytes, les tests furent négatifs. Il faut noter que cette série comportait 15 cas de polyarthrite séro-négative qui présentaient toutes une régocytose et donnèrent des résultats positifs.

Une série témoin de 71 malades, présentant des hyarthroses non rhumatoïdes, ne donna une réponse positive que dans 3 cas (1 syndrome de Reiter, 1 Lupus érythémateux disséminé, une goutte tophacée) qui comportaient du facteur rhumatoïde, tant dans le plasma que dans le liquide synovial.

Une étude pratiquée sur les leucocytes du sang périphérique montra, dans 60 % des cas, des inclusions ressemblant à celles observées dans le liquide synovial.

Dans 46 % des cas de polyarthrite rhumatoïde séro-positve, du facteur rhumatoïde fut retrouvé dans les homogénats cellulaires de leucocytes périphériques. Ce pourcentage tomba à 4 % pour les polyarthrites rhumatoïdes séro-négatives.

Comme contre-épreuve, ASTORGA et BOLLET voulurent reproduire, in vitro, les granulations ragocytaires en faisant incuber des leucocytes normaux dans un mélange de facteur rhumatoïde et de Fraction 2 de Cohn.

Ils virent apparaitre, dans ces leucocytes initialement normaux, des inclusions ayant exactement les mêmes caractéristiques que celles de l'arthrite rhumatoïde.

Ils purent, par ailleurs, établir une correspondance étroite entre la phagocytose des précipités et la production d'enzymes protéolytiques, tels la cathepsine ou les phosphatases, dans le milieu synovial.

Ces résultats, selon les auteurs, semblent donc confirmer l'hypothèse de HOLLANDER, c'est à dire que la phagocytose des précipités immuns produit les sphérules décrites dans les ragocytes. La dégranulation leucocytaire pourrait, dans un second temps, libérer des enzymes protéolytiques responsables des destructions articulaires observées en clinique.

Des études identiques ont été effectuées par d'autres auteurs, toujours dans le but de prouver la présence de facteur rhumatoïde dans les cellules à inclusions.

WILLKENS et HEALEY (35) soumirent des ragocytes à une alternance de chocs thermiques. Les débris cellulaires furent éliminés par centrifugation et le liquide surnageant testé pour la recherche du facteur rhumatoïde.

Les tests au Latex furent pratiqués conjointement sur lame et en tube selon la méthode de Singer et Plotz.

Des inclusions furent trouvées dans les leucocytes de 52 malades sur les 59 atteints de maladie rhumatoïde, et dans le liquide synovial de 18 des 37 malades ayant des épanchements dûs à une autre cause.

Ces 37 malades avaient été répartis en 3 groupes, en fonction du diagnostic clinique.

- le premier groupe comprenait des malades souffrant d'arthrites septiques, de pelvispondylite à manifestations périphériques, de rhumatismes psoriasiques et d'arthrites lupiques. Treize parmi ces 17 sujets présentaient des ragocytes.

- le deuxième groupe était constitué par des malades atteints d'arthropathies non inflammatoires, comme des arthroses ou des épanchements traumatiques. Un seul cas de ragocytose fut noté dans cette série.

- le troisième groupe rassemblait des gouttes et des chondrocalcinoses. Aucune cellule à inclusions ne fut observée.

Sur 41 malades atteints de maladie rhumatoïde, 18 avaient du facteur rhumatoïde décelable dans les cellules en utilisant la méthode du Latex en tube (Singer et Plotz), alors que la recherche du facteur rhumatoïde sur lame fut 31 fois positive dans cette série.

Sur les 31 malades témoins dont l'extrait cellulaire fut observé, 4 avaient une réaction au Latex positive par la méthode de Singer et Plotz, contre 16 par la méthode sur lame. Il s'agissait d'un cas de Pelvispondylite, d'un épanchement dû à une immobilisation et de deux cas d'arthrose.

Ce travail de WILLKENS et HEALEY confirme en partie celui d'ASTORGA et BOLLET, puisque les auteurs ont pu affirmer la présence de facteur rhumatoïde dans les cellules à inclusions en utilisant un test de floculation en tube.

Mais la discordance existant entre les résultats obtenus par les méthodes en tube et sur lame, laisse planer un doute sur la validité du test au Latex sur lame (trop grande sensibilité), expliquant peut-être qu'ASTORGA ait trouvé du facteur rhumatoïde dans les extraits cellulaires, même quand le sérum et le liquide synovial n'en contenaient pas, alors que WILLKENS et HEALEY n'ont observé de cas positifs que lorsque le liquide articulaire présentait une positivité au test de Singer et Plotz.

En revanche, DELBARRE (7) a essayé en vain de libérer le facteur rhumatoïde des ragocytes synoviaux.

Aucun liquide, parmi les 60 échantillons de sa série, n'a donné une réponse de Waaler-Rose ou de Singer-Plotz positive après traitement par les ultra-sons.

SOLNICA, par contre, obtint un pourcentage notable de succès en utilisant comme l'avaient fait WILLKENS et HEALEY, une alternance de chocs thermiques (congélations et décongélations successives).

Sur les 24 liquides rhumatoïdes étudiés avec cette technique, 14 donnèrent une réponse positive :

- 8 fois en utilisant la réaction au Latex sur lame
- 3 fois en utilisant la réaction au Latex en tube
- 3 fois en utilisant la réaction de Waaler-Rose

Dans tous les cas, seule l'une des trois réactions utilisées était positive.

b) Etude des variations du taux du complément hémolytique

Depuis un certain nombre d'années, des modifications de l'activité hémolytique du complément sérique ont été remarquées au cours des rhumatismes inflammatoires.

Mais il a fallut que des méthodes précises de dosage soient mises au point, pour que les variations du taux du complément puissent être quantifiées et rattachées aux réactions antigène-anticorps qui se produisent dans l'organisme au cours des maladies immunologiques.

Dans certaines d'entre elles, comme le Lupus Erythémateux disséminé, le taux de complément sérique est abaissé, tandis que dans d'autres (Rhumatisme articulaire aigu, Maladie rhumatoïde, Périartérite noueuse, Polymyosite), il est augmenté.

Une hypothèse a été proposée pour tenter d'expliquer ces variations. Le taux sérique du complément résulterait de l'action de deux mécanismes antagonistes: une synthèse cellulaire et une consommation par fixation sur des complexes antigène-anticorps. En outre, différents paramètres, comme la durée de vie des constituants du complément et la présence de substances anti-complémentaires, pourraient modifier cette cinétique.

Il y aurait ainsi des périodes, au cours d'un rhumatisme inflammatoire, où la synthèse serait plus importante que la consommation, d'où élévation du taux sérique, et des phases où la multiplicité des réactions immunes entraînerait une baisse de l'activité complémentaire.

De nombreux auteurs se sont intéressé au dosage du complément, sur les lieux mêmes de son action présumée en pathologie rhumatologique, c'est à dire

Dans une étude récente, PELTIER et Coll. (24), se sont attachés à étudier les variations du taux du complément synovial, dans les liquides articulaires de malades atteints de rhumatismes inflammatoires, et dans leur sérum.

La détermination du taux du complément hémolytique a d'abord été effectuée dans le sérum de 69 sujets bien portants pour définir sa valeur normale et ses limites physiologiques. Ont été considérés comme normaux des chiffres compris entre 35 et 50 unités hémolytiques 50 par ml (l'unité hémolytique 50 étant la quantité de complément susceptible d'hémolyser 50 % de 5×10^8 hématies de moutons sensibilisées de façon optimum). Il a été constaté, en outre que le taux du complément croît régulièrement avec l'âge, passant de 39 unités avant 30 ans, à 47 unités, pour les sujets ayant plus de 60 ans.

Le dosage du complément hémolytique a ensuite été effectué dans le sérum de malades atteints de maladies ostéo-articulaires (Pelvispondylites, Rhumatismes psoriasiques et Viraux, Cancers des os).

Dans tous les sérums étudiés, le taux du complément était supérieur aux valeurs normales, à l'exception de deux cas de Lupus Erythémateux Disséminé, pour lesquels l'activité complémentaire, inférieure à la normale avant tout traitement, se normalisa après administration de corticoïdes.

Dans un second temps, le dosage du complément hémolytique a été effectué dans le liquide synovial.

Les taux trouvés dans le liquide synovial normal (les épanchements d'hydarthrose essentielle étant considérés comme tel) sont approximativement la moitié du taux sérique, soit 20 unités hémolytiques 50 par ml.

Le complément a été dosé ensuite dans 39 liquides synoviaux de sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde.

Un tiers des malades présentait un taux de complément normal ou sub-normal, tandis que les autres avaient un taux nettement abaissé, voire égal à zéro pour 10 d'entre eux.

Cet abaissement, ou cet effondrement, de l'activité hémolytique dans le liquide synovial, paraît, pour les auteurs, caractéristique de la maladie rhumatoïde, puisqu'ils ne l'ont jamais rencontré dans une autre affection.

Le complément synovial a été également dosé chez 10 malades présentant une polyarthrite séro-négative. Les taux trouvés ont été nettement abaissés dans 5 cas, légèrement abaissés dans 3 cas et dans les limites de la normale pour les deux autres cas.

Le complément synovial a été dosé dans d'autres atteintes articulaires: Syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter (19 cas), psoriasique (1 cas), gouteuses (2 cas), arthrosique (1 cas), gonococcique (2 cas), arthrite au cours d'une recto-colite ulcéreuse (1 cas). Dans tous ces liquides, le taux du complément synovial a été trouvé élevé, sauf dans une arthrose, une goutte et un rhumatisme psoriasique où il était normal.

La conclusion des auteurs est que les variations du taux du complément semblent plus significatives dans le liquide synovial que dans le sérum.

L'abaissement de ce taux doit faire penser au diagnostic de maladie rhumatoïde. En revanche, une élévation a été, dans plusieurs cas de rhumatisme inflammatoire étudiés au cours de ce travail, un élément d'orientation vers le diagnostic de Syndrome oculo-urétrio-synovial.

Dans un travail ultérieur, PELTIER et Coll. (25), ont étudié les variations du taux du complément hémolytique synovial en fonction de la ragocytose.

Les auteurs rapportent d'abord que la présence de ragocytes d'une part, et l'existence d'autre part, d'un taux relativement bas du complément hémolytique dans le liquide synovial de malades atteints de maladie rhumatoïde, sont habituelles et sont probablement des manifestations liées l'une à l'autre.

On peut penser, en effet, qu'au moins certaines des inclusions des ragocytes contiennent des complexes, composés de facteur rhumatoïde et de Gamma-globulines. Avant d'être phagocytés, ces complexes fixent vraisemblablement le complément hémolytique, de telle sorte que les propriétés opsoniques du complément hémolytique augmentent les possibilités de phagocytose de ces complexes, par les polynucléaires.

Les auteurs ont étudié en immuno-fluorescence un des composants (C'_3) du complément, dans les inclusions ragocytaires, mais cette étude s'est soldée par un échec.

En revanche, une relation inversement proportionnelle a été notée entre le taux de complément hémolytique et celui de la ragocytose et cette corrélation a été trouvée statistiquement significative. Cette constatation, selon les auteurs, indique que le complément joue un rôle dans la formation de la ragocytose.

B) RECHERCHES EN MICROSCOPIE CONVENTIONNELLE

MALININ et Coll. (16), ont cherché à déterminer la nature des inclusions des leucocytes synoviaux en utilisant des colorations vitales.

Ils ont observé des vacuoles, dans de nombreux polynucléaires; leur nombre et leur visibilité étaient d'autant plus importants que le liquide étudié était plus inflammatoire.

Dans les préparations sans coloration, ces vacuoles paraissaient sphériques, hautement réfringentes et d'un diamètre variant de 1,5 à 3 microns; elles étaient donc beaucoup plus grandes que les granulations neutrophiles.

Selon que ces formations se trouvaient ou non dans le plan focal, l'aspect observé était plus ou moins foncé.

En utilisant des produits comme le Rouge Neutre, le Vert Janus ou le Bleu de Méthylène, la coloration cytoplasmique soulignait nettement les limites vacuolaires dont le nombre paraissait fonction du délai d'incubation.

Aucune coloration ne fut obtenue avec les réactifs des graisses (Noir Soudan), sans une hydrolyse acide préalable. Ce fait est interprété par les auteurs comme une présomption de la nature lipidique des vacuoles ou de leur membrane.

Une hypothèse est également soulevée, selon laquelle cette vacuolisation pourrait être un aspect de dégénérescence ou de vieillissement cellulaire.

Une autre étude en microscopie conventionnelle présente une importance toute particulière, tant sur le plan diagnostique que pathogénique.

En effet, PEKIN et ZVAIFLER (23) ont mis en évidence dans le liquide synovial de malades atteints de polyarthrite rhumatoïde, des particules d'ADN.

Les auteurs ont constaté que ces particules nucléaires, colorables par le FEULGEN, pouvaient se trouver à l'état libre dans le liquide synovial, à l'intérieur des leucocytes ou adhérentes à la membrane des cellules. Un déplacement du matériel chromatinien a, d'autre part, été noté le long de la paroi cellulaire de certains leucocytes.

Des granules d'ADN ont été trouvés dans les 15 cas de polyarthrite rhumatoïde étudiés, dans un syndrome de Reiter et dans une Goutte. Dans ce dernier liquide, l'ADN était retrouvé aussi bien dans les cellules qu'à la périphérie.

Aucun des liquides d'arthrose, de chondrocalcinose ou d'arthrite post-traumatique n'a présenté de tels éléments Feulgen-positifs.

-O-O-O-O-O-O-

C) RECHERCHES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Il est curieux de constater que peu de recherches en microscopie électronique ont été, jusqu'à présent, consacrées à l'étude des cellules synoviales.

C'est ZUCKER-FRANKLIN (36) qui, la première, a examiné des liquides articulaires avec cette technique.

Les cellules rencontrées étaient en majorité des polynucléaires neutrophiles et des macrophages. Il n'y avait que très peu de lymphocytes ou de plasmocytes.

Outre une substance ressemblant à de la fibrine et des protéines amorphes le milieu entourant les cellules synoviales comprenait des mitochondries, des granulations et des fragments nucléaires.

De plus, le liquide montrait de nombreuses formations globulaires, homogènes et grises.

Contrastant avec les polynucléaires du sang périphérique, les cellules présentaient un grand nombre de vacuoles contenant les éléments observés dans le milieu ambiant. Les organites rencontrés à l'état libre dans le liquide étaient parfois entourés par des pseudopodes cellulaires évoquant des phagocytoses en cours. L'auteur en déduit que les vacuoles renfermant du matériel phagocyté étaient vraisemblablement des phagosomes.

Dans quelques cas, des granulations cellulaires furent fixées alors qu'elles s'aggloméraient avec des vacuoles, donnant ainsi naissance à des phagolysosomes.

Les formations globulaires grises observées dans le liquide furent également trouvées dans les cellules, parfois dans des vacuoles, en compagnie d'autres débris, prouvant ainsi qu'elles avaient été phagocytées.

ZUCKER-FRANKLIN a, dans un second temps, suivi en microscopie électronique les différents stades de la phagocytose expérimentale d'un mélange de facteur rhumatoïde et de Gamma G globulines agrégées, par des leucocytes normaux.

La taille et le nombre des inclusions leucocytaires augmentaient proportionnellement au temps d'incubation avec le mélange immun.

L'origine et la signification des structures globulaires grises sont difficiles à préciser. Elles représentent, de loin, les inclusions les plus fréquemment rencontrées, aussi bien chez les sujets normaux que chez les malades atteints de maladie rhumatoïde.

Leur ultra-structure incite l'auteur à penser qu'il s'agirait plus probablement de particules d'hyaluronate secrétées par les cellules synoviales de type B, que de facteur rhumatoïde.

Celui-ci constituerait plutôt une partie du matériel protéinique apparaissant comme substance amorphe.

Une autre étude, ultra-structurale et histo-chimique du liquide articulaire a été effectuée par MITROVIC et SOLNICA (21).

Les inclusions des leucocytes, après fixation et coloration, ont été classées en trois catégories, selon leur nature chimique:

- les granulations lipidiques, très fréquentes, sont marquées par le

Noir Soudan. Elles se présentent en amas granuleux irréguliers ou forment parfois des images cerclées à centre clair et pourtout épais.

- les vacuoles, assez rares, se colorent électivement par le

Rouge Neutre. Elles ne sont qu'exceptionnellement rencontrées dans les polynucléaires neutrophiles.

- les granulations colorables par le Feulgen

Un rapport étroit entre granulations lipidiques et inclusions ragocytaires a été mis en évidence par la comparaison des fréquences avec lesquelles ces éléments sont rencontrés.

L'étude en microscopie électronique des éléments cytoplasmiques a permis de différencier plusieurs types d'inclusions:

- les inclusions homogènes pâles ont toujours été présentes

dans les liquides examinés, et leur abondance était d'autant plus grande que le liquide était plus riche en ragocytes. Les contours de ces inclusions ont des aspects différents selon les colorations utilisées : réguliers après double fixation, ils se révèlent ondulés et déchiquetés après fixation osmiée. La membrane limitante n'est pas toujours entièrement visible et dans certains cas, l'inclusion semble directement au contact du cytoplasme environnant.

Ces formations peuvent se trouver à l'état libre dans le liquide ou à l'intérieur des vacuoles intra-cellulaires.

On a noté, parfois, qu'elles pouvaient être associées à des saccules d'ergastoplasme ou à des mitochondries dans des cellules présentant un aspect sécrétoire.

- les phagolysosomes, représentent le deuxième type d'inclusions.

Quasi-constants, ces éléments sont de petite taille dans les polynucléaires

Leur contenu est difficile à préciser, mais il est certain qu'ils contiennent, outre les granules lysosomiaux, des matériaux divers phagocytés comme de la fibrine, des fragments cellulaires ou des granulations neutrophiles.

Une autre substance non identifiée et présentant une structure fibrillaire a été également observée dans les phagolysosomes.

- les vacuoles cytoplasmiques constituent le troisième type d'inclusions. Elles sont fréquemment trouvées dans les macrophages où elles sont de grande dimension, alors qu'on ne les décèle que rarement dans les polynucléaires.

- les fragments nucléaires forment le dernier type d'inclusions que l'on peut rencontrer dans les cellules synoviales. Leur structure caractéristique permet le plus souvent de les identifier sans mal, mais il arrive parfois que du fait de la digestion cellulaire, de profonds remaniements morphologiques surviennent.

Les inclusions homogènes pâles semblent être synthétisées par certaines cellules mononucléaires à ergastoplasme abondant. Leur aspect fait penser qu'elles pourraient être de nature lipidique.

Il semble aux auteurs que la plupart des granulations ragocytaires correspondent à ce type d'inclusions. En effet, ce sont les seules absolument constantes dans tous les liquides synoviaux riches en ragocytes.

D) ETUDES EN IMMUNO-FLUORESCENCE

Les possibilités offertes par les techniques d'immuno-fluorescence pour analyser finement le contenu des cellules synoviales ont été utilisées par de nombreux auteurs.

RAWSON (26), le premier, entreprit d'étudier, avec cette méthode, les granulations des ragocytes provenant de différentes affections articulaires.

Dans la majorité des cas où il obtint une fluorescence positive, celle-ci résulta de l'action conjointe d'anti-sérums anti-Gamma G et anti-Gamma M.

Dans la première série, regroupant 29 polyarthrites rhumatoïdes, il nota 18 cas positifs et 6 cas douteux, soit un pourcentage de positivité de 75 %.

La deuxième série comportait 8 " variantes rhumatoïdes", c'est à dire 4 polyarthrites infantiles, une spondylarthrite, 2 rhumatismes psoriasiques et un rhumatisme articulaire aigu. Il y eut 7 cas positifs sur 8, seule la polyarthrite infantile ayant été négative.

La troisième série rassemblait 18 arthropathies diverses: gouttes, arthroses, arthrites septiques, chondrocalcinoses. Deux cas de Goutte furent les seuls à présenter une réaction positive.

Il ressort de cette étude que la fluorescence cellulaire serait habituellement localisée à la périphérie du cytoplasme, bien que dans quelques cas, les zones les plus centrales aient pu être révélées.

Par ailleurs, il semble à l'auteur, que seule une faible proportion de la population cellulaire a été marquée par les immuns-sérums.

DELBARRE et Coll. (7) ont fait une recherche identique pour préciser le contenu des ragocytes.

Ils ont obtenu, dans 34 cas de polyarthrites séro-positives, 18 fluorescences positives pour les Gamma M globulines et 3 fluorescences positives pour les Gamma G globulines. Une absence de fixation a été notée dans 10 cas.

Dans un second groupe, rassemblant 24 polyarthrites rhumatoïdes séro-négatives, la fluorescence, avec l'anti-sérum anti-Gamma M, a été constatée 5 fois, avec l'anti-sérum anti-Gamma G, une fois; une fluorescence mixte, Gamma G / Gamma M a été observée 2 fois.

Il semble donc découler de cette étude, que les liquides articulaires de polyarthrites séro-positives contiennent surtout des inclusions de Gamma M globulines, tandis que les formes séro-négatives présentent plus volontiers des inclusions mixtes de Gamma G et de Gamma M globulines.

Une fluorescence positive se présente, pour ces auteurs, sous forme de masses intra-cytoplasmiques, ayant la taille, la forme et la situation des granulations ragocytaires. Cependant, il leur semble que le nombre de cellules fluorescentes est inférieur à celui des ragocytes, et que la correspondance entre les inclusions visibles en lumière ordinaire et les particules fluorescentes n'est pas totale.

Au cours de ces différentes études en immuno-fluorescence, de nombreux constituants immunologiques, autres que le facteur rhumatoïde, furent successivement identifiés.

Ainsi, MALININ et ZVAIFLER (17), après avoir démontré la présence de particules nucléaires d'ADN dans les liquides rhumatoïdes, ont mis en évidence que celles-ci pouvaient induire la formation d'anticorps anti-nucléaires.

BARNETT et Coll. (2) ont recherché ces facteurs anti-nucléaires, dans le liquide synovial et dans le plasma, chez 21 malades atteints de maladie rhumatoïde, et chez 33 malades atteints d'autres maladies articulaires.

Au cours de ce travail, des facteurs anti-nucléaires appartenant à une ou plusieurs classes d'immuno-globulines, ont été isolés dans le liquide articulaire de 9 des 21 malades atteints d'arthrite rhumatoïde.

Des facteurs anti-nucléaires ont été également trouvés dans le liquide synovial de 2 malades ayant une arthrite traumatique et une goutte.

La classe Gamma M d'immuno-globulines a été le plus souvent rencontrée dans les liquides examinés, mais les 9 malades atteints d'arthrite rhumatoïde présentaient aussi des Gamma G globulines (4 cas) et des Gamma A globulines (2 cas).

La plupart du temps, le facteur anti-nucléaire était présent simultanément dans le sérum et dans le liquide, mais chez quelques malades néanmoins, il n'a pu être identifié que dans le seul liquide synovial, suggérant que les facteurs anti-nucléaires, comme le facteur rhumatoïde,

MAC SWEEN et Coll. (15) ont également recherché la présence de facteurs anti-nucléaires dans le sérum et le liquide synovial de malades présentant des atteintes articulaires variées.

L'étude de 110 malades atteints de maladie rhumatoïde montra que le sérum et le liquide synovial étaient simultanément positifs dans 22 cas, le sérum seul dans 9 cas, et le liquide seul dans 3 cas.

Parmi les 31 malades témoins, on n'enregistra de positivité que pour 2 sérums.

Les taux de facteurs anti-nucléaires dans le sérum et le liquide articulaire étaient analogues chez les 22 malades qui présentaient une positivité simultanée de leurs liquides biologiques. Chez ces sujets, la nature globulinique de l'anticorps était la même, que ce soit dans le sérum ou dans le liquide synovial.

La Gamma M (IgM) globuline a été retrouvée dans 70 % des cas, la globuline Gamma G (IgG) dans 24 % des cas et la combinaison Gamma G/Gamma M dans 6 % des cas.

A de nombreuses reprises, le taux de facteur anti-nucléaire dans le liquide synovial s'est révélé très supérieur au taux sérique.

Ce fait suggère également aux auteurs, que dans quelques cas au moins, les facteurs anti-nucléaires doivent être produits localement dans l'articulation.

BARNHART et RIDDLE (3), quant à eux, ont particulièrement recherché dans les ragocytes les particules de fibrine et certains enzymes lysosomiaux.

Ils ont marqué ces leucocytes avec des sérums fluorescents anti-IgG anti-IgM, anti-albumine, anti-fibrine et anti-cathepsine.

Les résultats de cette étude montrent que les granulations des ragocytes présentent une importante hétérogénéité immuno-chimique. Des polynucléaires contenant simultanément plusieurs protéines, chacune située dans un compartiment cellulaire séparé, furent fréquemment rencontrées.

Deux types de fluorescence cellulaire ont été notés dans les leucocytes synoviaux:

- soit des granulations marginales, assez grandes, fréquemment observées dans les polynucléaires de malades atteints de maladie rhumatoïde
- soit une fluorescence cytoplasmique diffuse, qui a été considérée comme spécifique par les auteurs devant les aspects observés après phagocytose expérimentale de fibrine autologue.

Ce travail a démontré également la présence de particules extra-cellulaires dans les exsudats inflammatoires synoviaux. En particulier, chez des malades rhumatoïdes, des masses de matériel fibrineux ont été souvent trouvés en dehors des cellules, de même que des agrégats de Gamma-G et de Gamma-M globulines.

BARNHART et RIDDLE, par ailleurs, ont souligné la différence qu'ont semblé présenter les polynucléaires neutrophiles et les monocytes devant la phagocytose des débris synoviaux.

En effet, si les cellules dont le cytoplasme contenait des particules de fibrine, d'IgG ou d'IgM étaient presque toujours des neutrophiles, les macrophages, en revanche, étaient rarement en cause.

Il a été également montré, au cours de cette étude, que l'émigration extra-vasculaire des polynucléaires neutrophiles pouvait être déterminée par la formation in vivo de fibrine. Cette leucocytose persistait tant que la fibrine serait présente dans le milieu synovial.

Les auteurs considèrent cette formation intra-articulaire de fibrine comme un stimulus certain de la migration leucocytaire.

Une autre caractéristique des exsudats inflammatoires, la dégranulation des neutrophiles, a été étudiée.

L'étude en immuno-fluorescence des polynucléaires neutrophiles du sang périphérique a permis de constater que ceux-ci contenaient des granules de cathepsine, rares ou absents dans les leucocytes synoviaux.

Il est ainsi apparu qu'après exposition dans le milieu synovial, les polynucléaires neutrophiles sanguins montraient un déficit en cathepsine. Ceci pourrait s'expliquer, soit par l'utilisation intra-cellulaire de cet enzyme, soit par son relachement dans le milieu environnant.

SOLNICA (30), dans une étude récente, s'est attaché à rechercher dans le liquide synovial:

- d'une part, le facteur rhumatoïde et les différentes immunoglobulines intra-leucocytaires

- d'autre part, les anticorps anti-nucléaires et anti-ADN

Dans un travail préliminaire, l'auteur a comparé les fréquences avec lesquelles du facteur rhumatoïde était décelé dans le plasma et le liquide synovial de sujets atteints de maladie rhumatoïde.

Dans 51 polyarthrites séro-positives, le facteur rhumatoïde a été trouvé 12 fois dans le sérum seul, et 39 fois dans le sérum et dans le liquide synovial.

Aucune des 36 polyarthrites séro-négatives n'a montré de facteur rhumatoïde dans le liquide synovial.

Les anticorps anti-nucléaires ont été, sur 110 examens, rencontrés 22 fois : 12 fois dans le sérum, 2 fois dans le liquide synovial et 8 fois dans les 2 produits biologiques.

Les anticorps anti-DNA ont été retrouvés 9 fois: 4 fois dans le sérum seul, 1 fois dans le liquide synovial, et 4 fois dans les deux.

Il n'a pas été mis en évidence, dans cette étude, de relation entre la présence d'anticorps anti-nucléaires ou anti-DNA et celle d'inclusions d'ADN colorées chimiquement par l'acridine orange.

La comparaison des taux des anticorps anti-nucléaires dans le sérum et dans le liquide synovial a montré que les taux synoviaux élevés correspondaient grossièrement aux taux sériques élevés.

Ces anticorps anti-nucléaires et anti-DNA appartenaient, quelque soit leur localisation, à la classe des Gamma G globulines.

Une recherche, par immuno-fluorescence, de Gamma G et de Gamma M globulines au sein des ragocytes, a ensuite été effectuée.

Trois types de fluorescences cellulaires ont été observés:

- une fluorescence cytoplasmique diffuse. Cet aspect apparaissait dans bon nombre de leucocytes des 46 liquides étudiés. Sa persistance après blocage par l'immun-sérum non marqué a suggéré qu'il s'agissait d'un phénomène non spécifique.

- une fluorescence nucléaire qui fut retrouvée 3 fois, dans un Lupus Erythémateux Disséminé (Anti IgG et Anti IgM), une polyarthrite séro-positives (Anti IgM) et dans une monoarthrite (Anti IgM).

- une fluorescence cytoplasmique granulaire, considérée comme spécifique, puisque ne disparaissant pas après action préalable des immun-sérums non marqués.

Les inclusions d'IgG ont été remarquées dans tous les cas de polyarthrites rhumatoïdes séro-positives (24/24) et dans 9/10 des polyarthrites séro-négatives.

Les inclusions d'IgM étaient quasi-constantes dans les polyarthrites séro-positives (23/24) et constantes dans les polyarthrites séro-négatives. (10/10).

Dans 12 affections d'autre nature (3 monoarthrites, 3 spondylarthrites, 1 Lupus erythémateux disséminé, 1 cas de Fiessinger-Leroy-Reiter, 1 cas de Rhumatisme articulaire aigu, et une arthrite septique), elles n'ont été retrouvées que 2 fois, dans le cas de Lupus et dans une monoarthrite.

Il n'existe, pour l'auteur, aucune relation entre le nombre de ragocytes et celui des leucocytes contenant des inclusions d'IGG ou d'IgM en immuno-fluorescence.

Il précise, par ailleurs, que si une coïncidence peut exister entre les granulations ragocytaires et les inclusions fluorescentes pour une même cellule, elle est loin d'être constante.

-O-O-O-O-O-O-O-

Les ragocytes ont été considérés primitivement par HOLLANDER (13) comme spécifiques de la maladie rhumatoïde, à tel point qu'il les avait nommés " RA cells ".

Ils ont été, depuis, mis en évidence dans la plupart des liquides articulaires inflammatoires et même dans le sang périphérique de malades atteints d'affections diverses.

VAUGHAN (33) a entrepris, dans un travail récent, d'étudier le contenu des inclusions ragocytaires, tant sanguines qu'articulaires, pour essayer de déterminer ce qui différenciait, immunologiquement, les ragocytes rhumatoïdes des ragocytes inflammatoires non spécifiques.

Outre les immuno-globulines, VAUGHAN a, au cours d'une première étude recherché en immuno-fluorescence, certains constituants du complément dans

En effet, une baisse du taux du complément hémolytique dans le liquide synovial avait été depuis longtemps notée, ce qui était un argument en faveur d'un processus immunologique local, comme le supposait HOLLANDER.

La révélation des différents constituants intra-cellulaires a été obtenue en utilisant des anti-sérums fluorescents anti-IgA, anti-IgG, anti-IgM et anti-C₃.

Au cours de ce travail, les cellules n'ont été considérées comme positives que lorsque leur cytoplasme contenait des granules fluorescents distincts. Une fluorescence cellulaire diffuse n'a pas été retenue.

Des échantillons de sang périphérique provenant de 75 malades (25 polyarthrites rhumatoïdes, 4 Lupus, 2 polyarthrites infantiles et 42 atteintes articulaires diverses) ont été examinés.

Sur 25 malades présentant une polyarthrite rhumatoïde, 8, soit 32 % montrèrent des inclusions cytoplasmiques qui furent trouvées à la fois dans les polynucléaires et dans les monocytes.

Aucune forme infantile, ni aucune arthrose, ne présenta de cellules positives dans le sang périphérique. Par contre, 2 des 4 cas de Lupus, 4 cas de mononucléose et 2 cas de Maladie de Besnier-Boeck-Schaumann, furent positifs.

Les leucocytes de 10 de ces malades présentant des ragocytes dans le sang périphérique furent étudiés en immuno-fluorescence. Ce groupe rassemblait 6 maladies rhumatoïdes et 4 arthrites inflammatoires d'étiologie diverses (Sd de Reiter, Lupus, Rhumatisme articulaire aigu).

Des inclusions d'IgA furent trouvées dans 1 cas de Maladie rhumatoïde, des inclusions d'IgG dans 8 cas (5 maladies rhumatoïdes et 3 arthrites diverses), des inclusions d'IgM dans 2 cas (1 maladie rhumatoïde et une arthrite non spécifique).

Un seul malade, faisant d'ailleurs partie du groupe des arthrites diverses, présenta une fluorescence positive avec l'anti-sérum anti-C₃.

Les liquides articulaires de 34 malades (18 maladies rhumatoïdes, 2 polyarthrites infantiles, 5 arthroses et 9 arthrites diverses), ont été ensuite examinés.

Présentaient des ragocytes, 15 des 18 maladies rhumatoïdes, les 2 polyarthrites infantiles, 3 des 5 cas d'arthrose et 5 des 9 arthrites d'étiologies diverses.

Une fluorescence positive fut retrouvée 4 fois (3 maladies rhumatoïdes, une polyarthrite infantile) avec le sérum anti-IgA, 25 fois avec le sérum anti-IgG (chaque fois que des ragocytes avaient été trouvés dans le liquide synovial), 13 fois avec le sérum anti-IgM (10 maladies rhumatoïdes 1 arthrose et 2 arthrites diverses).

Ce travail confirme donc la présence d'inclusions globuliniques dans les leucocytes du sang périphérique de malades atteints d'arthrites inflammatoires, qu'elles soient rhumatoïdes ou non.

Des inclusions d'IgG et d'IgM ont été retrouvées dans les leucocytes périphériques, avec une fréquence moindre que dans les leucocytes synoviaux.

Dans aucun des cas étudiés, il n'y eu de globulines décelées dans les leucocytes sanguins alors que les leucocytes synoviaux n'en contenaient pas.

L'intensité de la fluorescence des cellules à inclusions du sang périphérique était, en général, moins forte que celle des leucocytes synoviaux et le nombre de granulations par cellule bien moins important.

D'autre part, une corrélation a été mise en évidence entre la positivité de la sérologie sanguine et la présence d'inclusions d'IgM dans les ragocytes synoviaux.

Dans 24 cas de polyarthrite séro-positve, des inclusions d'IgM ont été retrouvées 18 fois, alors que dans les 26 cas de polyarthrite séro-négative, ces mêmes inclusions n'ont été retrouvées que 5 fois.

Dans une seconde étude, VAUGHAN (32) a voulu déterminer si la Gamma M globuline que l'on décèle dans les leucocytes par action d'un anti-sérum fluorescent anti-Gamma M, était ou non le facteur rhumatoïde.

Pour ce faire, il a utilisé des IgG humaines, agrégées et marquées par de la fluoresceine. Grâce à cette technique, toute molécule fixant ces IgG devait être du facteur rhumatoïde, puisque sa caractéristique majeure est son activité anti-Gamma G globuline.

Une fluorescence positive avec l'anti-sérum anti-Gamma M a été relevée chez 10 des 12 malades rhumatoïdes séro-positifs. Une activité anti-Gamma G humaine a été trouvée 7 fois sur 9 de ces cas d'inclusions d'IgM.

Aucune activité anti-Gamma G n'a été trouvée chez les malades ne présentant pas d'inclusions d'IgM, ni chez aucun des 11 autres malades séro-négatifs.

Il a été noté qu'avec cette technique, le nombre de cellules révélées et le nombre de granules par cellule, étaient souvent élevés. Par contre l'intensité de la fluorescence était faible.

Un certain nombre de grands précipités extra-cellulaires ont été observés. Leur fluorescence, très intense avec les anti-sérums anti-Gamma G et anti-Gamma M, devenait également faible quand on recherchait l'activité anti-Gamma G.

-O-O-O-O-O-O-O-O-

II / RECHERCHES PERSONNELLES

=====

Nous rapportons maintenant les résultats des études cytologiques et immunologiques effectuées sur les liquides synoviaux des malades observés dans le Centre de Rhumatologie de l'Hôpital TENON (Dr H. BLOCH-MICHEL), en collaboration avec les Laboratoires d'Anatomie Pathologique (Pr GOUYGOU) et de Sérologie (Pr agrégé DAUSSET) de l'Hôpital SAINT-LOUIS.

I) TECHNIQUES ET METHODES UTILISEES POUR CES ETUDES

Modalités de prélèvement

La majorité des liquides étudiés proviennent de ponction-biopsies à l'aiguille (Méthode de Parker et Pearson).

Dans quelques cas, ils ont été ponctionnés avant une arthrotomie chirurgicale.

Les échantillons de membrane synoviale que nous avons étudiés en microscopie conventionnelle ont été obtenus

- soit par ponction-biopsie à l'aiguille
- soit à l'aide du trocard de Polley et Bickel
- soit par action chirurgicale (biopsie, synovectomie, intervention à visée orthopédique).

Recherche des ragocytes

Elle a été faite selon une technique maintenant habituelle: centrifugation du liquide synovial, examen entre lame et lam elle, en contraste de phase du culot ainsi obtenu, au grossissement de x 600.

Traitement des liquides pour l'étude en immuno-fluorescence

Les liquides articulaires destinés à être étudiés en immuno- fluorescence furent, immédiatement après leur prélèvement, placés à basse température (-4°C), et le plus rapidement congelés à -70°C si leur examen ne pouvait être effectué immédiatement.

Les liquides ont été, dans un premier temps, lavés à 5 reprises au sérum physiologique, chacun des lavages étant suivi d'une centrifugation. Ces lavages étaient destinés à éliminer les traces d'immuno-globulines ayant pu se fixer à la surface des cellules présentes dans les liquides.

Les culots de centrifugation ont été, ensuite, étalés sur lame, soumis à une dessiccation par la chaleur à 37°C à l'étuve, pendant une heure, puis incubés pendant une demi-heure avec les anti-sérums destinés à révéler les globulines correspondantes.

Nous avons utilisé, au cours de cette étude, des sérums de chèvre anti-globulines humaines: anti-Gamma A, anti-Gamma G, anti-Gamma M et anti-globulines totales (IgA, IgG, IgM)*

Les lames, ainsi traitées, ont été ensuite lavées pendant 10 minutes dans une solution tampon à pH 7,2 pour éliminer le conjugué fluorescent non fixé sur les cellules; puis elles ont été montées à l'aide d'une solution de glycérine tamponnée à pH 7,2 et recouvertes d'une lamelle avant d'être examinées au microscope.

L'étude des cellules s'est effectuée en lumière ultra-violette (lampe OSRAM, filtre d'excitation BG 12 et filtre d'arrêt OG 5), au grossissement de x 320.

* Laboratoires HYLAND

Immunologie

Le facteur rhumatoïde a été recherché dans le plasma et dans le liquide synovial après centrifugation de celui-ci. Si la recherche était positive, le titre était précisé par des dilutions progressives.

La réaction de Waaler-Rose a été effectuée en utilisant comme réactif des globules rouges humains O Rh (-), sensibilisés par un immun-sérum de lapin anti-globules rouges humains O, selon la technique de l'Institut Pasteur de Paris (Professeur Eyquem)*.

La réaction au Latex a été effectuée en utilisant comme réactif des particules de latex sensibilisées par la fraction 2 de Cohn (Technique de Singer et Plotz modifiée)*.

La recherche du facteur rhumatoïde a également été faite dans les cellules synoviales .Après décantation du liquide surnageant, ces cellules ont été lavées 5 fois en sérum physiologique, pour éliminer toute trace de facteur rhumatoïde dans le liquide surnageant. Le culot cellulaire fut remis en suspension dans du sérum physiologique, puis homogénéisé par ultra-sons.

Les résultats ont été considérés comme positifs, lorsque le titre agglutinant du prélèvement était égal ou supérieur à I/32 pour la réaction de Waaler-Rose et à I/10 pour le test au Latex.

Dosage du complément hémolytique synovial

La détermination du taux synovial du complément a été faite sur un certain nombre de liquides articulaires en utilisant la méthode suivante: celle-ci doit être faite le jour même du prélèvement. Elle ne peut être reportée à une date ultérieure que si le liquide à examiner est congelé à - 30° C.

1° temps: Recherche du Complément dans le liquide

Un mélange constitué par 0,1 cc de liquide synovial et par 0,9 cc d'une solution de globules rouges de moutons diluée à 2 %, est maintenue à 37 °C pendant 10 minutes.

Une centrifugation (3000 t/m pendant 2 minutes), accélérant la sédimentation des éléments figurés permet une lecture plus aisée du degré d'hémolyse.

- Une hémolyse totale (absence de culot), correspond à un taux de complément normal.

- La présence d'un liquide surnageant coloré et d'un culot plus ou moins abondant, indique que le taux du complément est abaissé; au maximum, un liquide surnageant limpide correspond à un taux de complément nul.

2° temps: Titrage du Complément

Dans l'éventualité d'une baisse du taux du complément, un titrage plus précis de celui-ci est effectué. On utilise des séries de dilutions du liquide, sous un volume de 0,5 cc et en présence de 0,1 cc de solution de globules rouges de moutons à 2 % et de sérum hémolytique de lapin anti-mouton au 1/800. Le degré d'hémolyse est lu après une incubation d'une heure à 37°C et après centrifugation.

Le titre du complément est donné par la première dilution présentant une hémolyse totale.

2) DETAIL DES RESULTATS OBTENUS

=====

A) Recherche des cellules à inclusions ou ragocytes

La recherche des ragocytes et la détermination de leur fréquence dans différents liquides articulaires ont été étudiées en premier lieu.

Les 37 malades atteints de polyarthrite rhumatoïde qui ont été étudiés, furent répartis en 2 groupes:

- le premier, comportant les polyarthrites cliniquement certaines, c'est à dire les formes "classiques" et "définies" de la classification de l'A.R.A.

- le deuxième, comportant les polyarthrites cliniquement douteuses, c'est à dire les formes "probables" et "possibles" de la même classification.

Des ragocytes ont été trouvés 31 fois sur 37, soit dans 83% des cas.

Les résultats détaillés concernant les différentes formes cliniques sont indiqués Tableau I.

Nous avons, par ailleurs, étudié l'importance de la ragocytose synoviale en fonction de la présence ou de l'absence du facteur rhumatoïde dans le plasma.

L'étude du liquide synovial des 19 malades séro-positifs a montré que tous ceux-ci présentaient une ragocytose, dont l'intensité est figurée Tableau II.

Seuls 12 sur les 18 malades séro-négatifs ont été trouvés porteurs de ragocytes, soit 66 %.

Les liquides témoins furent classés en deux catégories:

- liquides provenant d'arthropathies inflammatoires n'appartenant certainement pas à la maladie rhumatoïde
- liquides retirés d'arthropathies dégénératives.

Alors que ces derniers ne montrèrent qu'une faible fréquence de ragocytose (1 fois sur 13), des cellules à inclusions furent souvent trouvées dans les liquides inflammatoires non rhumatoïdes, en particulier dans ceux provenant d'arthropathies goutteuses ou psoriasiques (Tableau III)

-o-o-o-o-o-o-o-o-

TABLEAU I

MALADIE RHUMATOIDE	RAGOCYTOSE +
Cliniquement certaines 22	19 (86 %)
Classiques 17	14
Typiques 5	5
Cliniquement douteuses 15	12 (80 %)
Probables 13	11
Possibles 2	1
Total général 37	31 (83 %)

TABLEAU II

SEROLOGIE	TOTAL	RARES 5-25%	MOYENS 25-50%	NOMBREUX sup à 50%
SERO (+)	19(100%)	3	13	3
SERO (-)	12(66%)	4	6	2

Intensité de la ragocytose dans 37 cas de Polyarthrite rhumatoïde en fonction de la sérologie plasmatique

TABLEAU III

REPARTITION DE LA RAGOCYTOSE DANS LES LIQUIDES TEMOINS (24)

GOUTTE	3/4
TUBERCULOSE SYNOVIALE	1/1
CHONDROCALCINOSE	1/2
ARTHROPATHIE TABETIQUE	0/1
HYDARTHROSE MECANIQUE	1/4
MALADIE DE BEHCET	1/1
POLYARTHRITE PSORIASIQUE	2/2
RHUMATISME ARTICULAIRE AIGU	1/1
ARTHROSE	0/3

10/24

B) Dosage du complément hémolytique dans le liquide synovial

Nous avons d'autre part, étudié le taux du complément hémolytique dans le liquide synovial de 22 sujets présentant des atteintes articulaires d'étiologies diverses: Polyarthrite rhumatoïde (13 cas), Arthrose (2 cas) Hydarthroses mécaniques (2 cas), Polyarthrite psoriasique (1 cas), Hydarthrose goutteuse (2 cas), Maladie de Behcet (1 cas), Chondrocalcinose (1 cas).

Dans le premier groupe de 13 polyarthrites rhumatoïdes séro-positives ou séro-négatives, nous avons constaté:

- un taux normal de complément (2 fois)
- un taux nettement abaissé (1 fois)
- un taux effondré, égal à zéro (10 fois)

Le deuxième groupe, composé d'arthroses et d'hydarthroses mécaniques a présenté un taux normal, une fois, un taux modérément abaissé, une fois, et un taux très abaissé, deux fois.

Le troisième groupe, rassemblant des liquides inflammatoires d'étiologies diverses a montré, deux fois, un taux de complément normal (Goutte et Chondrocalcinose), une fois un taux modérément abaissé (Maladie de Behcet), et deux fois un taux effondré (Goutte et Polyarthrite psoriasique).

C) Recherche du facteur rhumatoïde dans les cellules articulaires

Nous avons également cherché à libérer le facteur rhumatoïde des cellules inflammatoires synoviales en les soumettant à l'action d'ultrasons.

Au cours d'un travail antérieur, portant sur 21 liquides de polyarthrite rhumatoïde (5), une réaction faiblement positive avec le test au Latex (Méthode de Singer et Plotz modifiée), n'a été notée que 4 fois. La réaction de Waaler-Rose a toujours été négative.

Une étude complémentaire, portant sur 70 liquides articulaires de polyarthrites rhumatoïdes séro-positives ou séro-négatives, a été faite depuis, et les résultats n'en sont guère plus probants.

Seuls 3 homogénats cellulaires présentèrent une faible positivité avec le test au Latex, malgré une ragocytose toujours élevée. La réaction de Waaler-Rose est, de même, toujours restée négative.

-o-o-o-o-o-o-o-o-

D) ETUDE DES CELLULES SYNOVIALES EN IMMUNO-FLUORESCENCE
=====

a) MORPHOLOGIE DES ASPECTS OBSERVES

La fluorescence cellulaire peut se révéler, schématiquement, sous 4 aspects:

- de grosses granulations, peu nombreuses, se présentant sous forme de sphérules intra-cytoplasmiques vert acide, tranchant sur le fond noir.
- des granulations plus fines et nombreuses, donnant un aspect piqueté au cytoplasme et dessinant, en négatif, la silhouette nucléaire.
- une fluorescence cytoplasmique diffuse, plus ou moins homogène
- une fluorescence nucléaire, homogène ou réticulée

Nous avons également observé, avec une assez grande fréquence, des dépôts extra-cellulaires. Ceux-ci consistent en des masses fluorescentes accolées en couronne aux parois cellulaires ou éparses entre les éléments figurés.

On peut trouver, pour un liquide donné, une population cellulaire homogène où toutes les cellules offrent le même aspect. Mais un panachage est fréquent, et les différents aspects analysés ci-dessus peuvent se cotoyer ou coexister au sein d'une même cellule.

Ceci nous faisait penser, au début de ce travail, que les aspects considérés pouvaient être différents stades de la dégradation des particules phagocytées.

Mais SOLNICA et Coll. ont récemment démontré, en traitant préalablement les cellules par des immun-sérums non marqués, que la fluorescence

cellulaire diffuse et homogène n'est pas spécifique (30).

Les cellules positives ont été classées en 3 groupes:

- faiblement positives (+)
- moyennement positives (++)
- fortement positives (+++)

en tenant compte du nombre de cellules révélées, de l'intensité de la fluorescence, de la présence et du nombre de granulations, ainsi que des dépôts extra-cellulaires.

Dans un certain nombre de cas, la rareté des cellules fluorescentes et la faiblesse de l'intensité lumineuse, n'ont pu faire classer ces liquides comme positifs. Ils sont indiqués comme douteux (±)

Les liquides négatifs (-), sont ceux dans lesquels aucune fluorescence nette n'a été retrouvée.

-O-O-O-O-O-O-O-O-O-

b) RESULTATS DE L'ETUDE CONCERNANT LES LIQUIDES RHUMATOIDES

Une fluorescence avec les anti-sérums anti-Gamma G a été relevée chez 23 des 26 malades présentant une polyarthrite rhumatoïde. Deux cas ont été classés comme douteux et un cas fut négatif.

Dans 23 cas également, on a noté une fluorescence positive avec les anti-sérums anti-Gamma M. Deux cas douteux et un cas négatif furent trouvés de même.

Au cours de la recherche des inclusions de Gamma-A globulines, 16 cas ont été retenus comme positifs, 5 comme douteux et 5 comme négatifs.

Les pourcentages de positivité sont donc respectivement:

- 61 % avec les anti-sérums anti-Gamma A
- 88 % avec les anti-sérums anti-Gamma G
- 88 % avec les anti-sérums anti-Gamma M

c) RESULTATS DE L'ETUDE DES EPANCHEMENTS NON RHUMATOIDES

L'examen des liquides arthrosiques ou d'épanchements mécaniques n'a montré qu'une faible proportion de cas positifs: 1 fois sur 11 avec les anti-sérums anti-Gamma M, 2 fois sur 11 avec les anti-sérums anti-Gamma A et anti-Gamma G.

Nous avons, en revanche, trouvé des cas de positivité indiscutable avec les anti-sérums anti-Gamma G et anti-Gamma M au cours d'une chondrocalcinose, de deux rhumatismes psoriasiques, d'une hydarthrose goutteuse et d'un rhumatisme articulaire aigu.

Une fluorescence nucléaire a été remarquée à 5 reprises chez des sujets présentant une polyarthrite rhumatoïde séro-positive.

- 3 fois avec l'anti-sérum anti-Gamma M

- 2 fois avec l'anti-sérum anti-Gamma G

Un épanchement articulaire chyleux, survenu chez un malade atteint d'un cancer de la prostate métastatique, a également montré cet aspect de fluorescence nucléaire avec l'anti-sérum anti-Gamma M.

-O-O-O-O-O-O-

FLUORESCENCE CELLULAIRE DANS 26 CAS DE POLYARTHRITE

	FLUORESCENCE			
	POSITIVE	DOUTEUSE	NEGATIVE	
anti-Gamma A	16	5	5	61 %
anti-Gamma G	23	2	1	88 %
anti-Gamma M	23	2	1	88 %

TABLEAU IV

FIXATION DES IMMUN-SERUMS EN FONCTION DE LA CLINIQUE (26 cas)

	Sérum anti-Gamma A			Sérum anti-Gamma G			Sérum anti-Gamma M		
	+	±	-	+	±	-	+	±	-
certaines ⁰⁰	10	1	1	12		1	13	1	1
douteuses ⁰⁰	5	4	4	11	2		10	1	
Total	16	5	5	23	2	1	23	2	1

TABLEAU V

TABLEAU VI

	GAMMA A			GAMMA G			GAMMA M		
	+	±	0	+	±	0	+	±	0
CHONDROCALCINOSE (4)	2	-	2	2	1	1	1	-	3
PSORIASIS (2)	2	-	-	2	-	-	2	-	-
ARTHROSE (3)	2	3	3	1	-	7	1	3	4
HYDARTHROSE MECAN (2)	-	1	1	1	-	1	-	1	1
TUBERCULOSE SYNOV (1)	-	-	1	-	1	-	-	-	1
BEHCET (1)	-	1	-	-	1	-	-	-	1
R.A.A. (1)	1	-	-	1	-	-	1	-	-
MONOARTHRITE (2)	1	1	-	2	-	-	1	-	1
TABES (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GOUTTE (3)	1	-	2	1	-	2	1	-	2
	10	7	9	12	3	11	9	5	12

FIXATION DES DIFFERENTS ANTI-SERUMS DANS 25 LIQUIDES TEMOINS

d) ETUDE DE LA FLUORESCENCE EN FONCTION DE LA SEROLOGIE PLASMATIQUE

Il nous est apparu intéressant, dans un second temps, d'étudier les corrélations possibles entre, d'une part la fluorescence cellulaire pour les différentes globulines, et d'autre part, la présence de facteur rhumatoïde dans le sérum.

Nous avons comparé, dans ce but, les résultats de deux séries de polyarthrites séro-négatives et séro-positives, comportant chacune treize cas.

La série des polyarthrites séro-positives montra à I3 reprises une fluorescence positive avec l'anti-sérum anti-Gamma G et à I2 reprises une fluorescence positive avec l'anti-sérum anti-Gamma M. La positivité pour les inclusions d'IgA fut retrouvée 8 fois.

La série des polyarthrites séro-négatives montra IO cas positifs avec l'anti-sérum anti-Gamma G et II cas positifs avec l'anti-sérum anti-Gamma M. Le nombre de résultats positifs pour les inclusions d'IgA fut également de 8.

Il faut noter que si tous les types de fluorescence cellulaire peuvent être retrouvés dans les liquides de polyarthrites séro-positives ou séro-négatives, les cellules renfermant les grosses granulations d'IgM sont plus fréquemment rencontrées quand du facteur rhumatoïde est décelé dans le plasma.

	GAMMA A			GAMMA G			GAMMA M		
	+	±	0	+	±	0	+	±	0
SERO (+) 13 cas	8	2	3	13	-	-	12	-	1
SERO (-) 13 cas	8	3	2	10	2	1	11	2	-

FIXATION DES DIFFERENTS ANTI-SERUMS / SEROLOGIE SANGUINE

TABLEAU VII

	GAMMA A			GAMMA G			GAMMA M		
	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++
CLASSIQUE	2	3	2	2	3	4	1	3	5
DEFINIE	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PROBABLE	1	-	-	3	-	1	1	-	1

POLYARTHRITES SERO-POSITIVES (13 CAS)

TABLEAU VIII

	GAMMA A			GAMMA G			GAMMA M		
	+	++	+++	+	++	+++	+	++	+++
CLASSIQUE	1	-	1	-	1	-	-	-	2
DEFINIE	-	1	-	1	1	-	-	1	1
PROBABLE	3	2	-	2	4	1	3	2	2

POLYARTHRITES SERO-NEGATIVES (13 CAS)

TABLEAU IX

INTENSITE DE LA POSITIVITE EN FONCTION DE LA CLINIQUE

e) ETUDE DE LA FLUORESCENCE EN FONCTION DE LA SEROLOGIE DU SURNAGEANT

Nous avons, par ailleurs, essayé de dégager une corrélation entre, d'une part la fluorescence cellulaire, et d'autre part la présence de facteur rhumatoïde dans le liquide synovial.

Les résultats sont superposables à ceux obtenus lors de l'étude comparative de cette fluorescence avec la sérologie plasmatique.

Sur 14 liquides rhumatoïdes contenant du facteur rhumatoïde, 8 contenaient des inclusions d'IgA, 13 des inclusions d'IgG et 12 des inclusions d'IgM.

Il faut noter que du facteur rhumatoïde a été trouvé dans le liquide articulaire de 4 cas de polyarthrite rhumatoïde séro-négative et que ces 4 liquides contenaient des cellules avec des inclusions de Gamma M globuline.

Dans la série de 12 liquides rhumatoïdes ne contenant pas de facteur rhumatoïde, les résultats positifs furent au nombre de 8 avec l'anti-sérum anti-Gamma A, de 10 avec l'anti-sérum anti-Gamma G et de 11 avec l'anti-sérum anti-Gamma M (Tableau X).

-O-O-O-O-O-O-O-O-O-

	GAMMA A			GAMMA G			GAMMA M		
	+	$\pm$	0	+	$\pm$	0	+	$\pm$	0
LIQUIDE (+) (14)	8	2	4	13	1	-	12	-	2
LIQUIDE (-) (12)	8	3	1	10	1	1	11	1	-

REPARTITION DES FLUORESCENCES EN FONCTION DE LA

SEROLOGIE DU SURNAGEANT

TABLEAU X

ETUDE DES CORRELATIONS POSSIBLES ENTRE FLUORESCENCE ET RAGOCYTOSE

Nous avons ensuite étudié les rapports pouvant exister entre la ragocytose et la présence des différentes inclusions globuliniques dans les cellules articulaires.

Aucune fluorescence cellulaire n'a pu être décelée, pour quelque type d'immuno-globuline que ce soit, quand il n'existait pas de ragocytes dans le liquide étudié.

En revanche, nous n'avons pu établir de corrélation nette entre le degré de la ragocytose, d'une part, et l'intensité de la fluorescence, d'autre part.

La fixation de l'anti-sérum anti-Gamma M est certes plus fréquemment rencontrée dans les formes évolutives de la maladie rhumatoïde, où la ragocytose est importante, que dans les formes cliniquement douteuses.

Mais d'assez nombreux cas où le caractère rhumatoïde de la polyarthrite n'était pas cliniquement certain et la ragocytose minime, ont montré une fluorescence très positive (qualitativement et quantitativement) pour les Gamma M globulines.

Nous avons cependant remarqué que le pourcentage de cellules révélées en immuno-fluorescence était, pour un liquide donné, supérieur au pourcentage de cellules indiquées comme ragocytes en lumière polarisée.

ETUDE DE LA FLUORESCENCE EN FONCTION DE L'HISTOLOGIE SYNOVIALE

Nous analyserons maintenant, les résultats obtenus en fonction des données de l'histologie synoviale.

Sur les 26 cas de polyarthrite rhumatoïde dont les liquides ont été examinés en immuno-fluorescence, 13 présentaient une histologie rhumatoïde.

La plupart du temps, celle-ci était typique selon les critères de l'A.R.A., associant selon les cas :

- hypertrophie villose des franges
- revêtement pseudo-épithélial, avec turgescence et disposition palissadique des synoviocytes.
- infiltration lympho-plasmocytaire péri-vasculaire
- infiltration intersticielle par des dépôts de fibrine

Dans 3 cas, le compte-rendu histologique conclut à une synovite aiguë ou sub-aiguë non spécifique, et dans 10 autres cas, on nota la présence d'amas de fibrine infiltrée par des polynucléaires.

Les 13 malades dont la synoviale présentait, sur le fragment biopsié, un aspect rhumatoïde étaient porteurs d'épanchements dans lesquels des inclusions d'IgA furent retrouvées 7 fois, des inclusions d'IgG, 10 fois et des inclusions d'IgM, 11 fois.

Les 13 malades dont l'histologie n'était pas de type rhumatoïde étaient également porteurs d'inclusions globuliniques. On nota, dans cette série, 9 cas d'inclusions d'IgA, 12 cas d'inclusions d'IgM et 12 cas d'inclusions d'IgG.

Ce fait mérite deux explications :

- Il peut être mis, d'une part, au passif de la technique de ponction-biopsie qui ne prélève que des fragments de dimensions modestes et peut passer à côté de lésions évocatrices.

- D'autre part, la variabilité des lésions histologiques dans le temps, au cours de l'évolution de la polyarthrite rhumatoïde, peut être en cause.

-O-O-O-O-O-O-O-

	+	<u>±</u> ou 0	+	<u>±</u> ou 0
GAMMA A	7	6	9	4
GAMMA G	10	3	12	1
GAMMA H	11	2	12	1

HISTOLOGIE RHUMATOIDE

HISTOLOGIE NON RHUMATOIDE

FLUORESCENCE CELLULAIRE DE 26 LIQUIDES RHUMATOIDESEN FONCTION DE L'HISTOLOGIETABLEAU XI

ANALYSE COMPARATIVE DES RESULTATS OBTENUS AVEC CEUX DE LA LITTERATURE

Nous rapportons une étude du liquide synovial, comportant la recherche des ragocytes, la détermination du taux du complément dans les épanchements, la recherche du facteur rhumatoïde dans les homogénats cellulaires et la mise en évidence, en immuno-fluorescence, des immuno-globulines intra-leucocytaires.

Soixante et un liquides synoviaux ont été étudiés (37 liquides d'arthrite rhumatoïde et 24 liquides témoins). Ce protocole d'examen n'a pu être complètement effectué dans tous les cas.

I) Notre travail confirme l'extrême fréquence de la présence de cellules à inclusions, ou ragocytes, dans les liquides synoviaux de maladie rhumatoïde. Constante dans les polyarthrites séro-positives étudiées (19/19), la ragocytose a été moins fréquemment relevée dans les polyarthrites séro-négatives (12/18 soit 66 %). Dans l'ensemble, la fréquence avec laquelle les ragocytes sont retrouvés apparaît d'autant plus grande que le diagnostic est considéré cliniquement comme certain.

Nous avons trouvé des cellules à inclusions dans les liquides de rhumatismes inflammatoires non rhumatoïdes et au cours d'arthropathies micro-cristallines, confirmant ainsi la notion unanimement reconnue d'après laquelle la ragocytose ne saurait être considérée comme spécifique de la maladie rhumatoïde.

Par contre, nous n'avons qu'exceptionnellement constaté de ragocytes dans les liquides considérés cliniquement comme des épanchements arthrosiques ou des transsudats mécaniques.

Ces faits comportent un intérêt pratique certain, et la recherche de la ragocytose peut être utilisée comme élément d'orientation au même titre que la numération-formule des éléments cellulaires.

2) En ce qui concerne la détermination du taux du complément dans les liquides articulaires, nos constatations rejoignent celles de la littérature puisque le taux du complément synovial a été trouvé très abaissé dans plus de 80 % des polyarthrites rhumatoïdes étudiées.

3) La recherche du facteur rhumatoïde dans les homogénats de cellules articulaires, brisées par ultra-sons, a été effectuée chez 91 malades présentant une polyarthrite rhumatoïde séro-positif ou séro-négatif.

Nous n'avons qu'exceptionnellement trouvé des résultats positifs (7 fois sur 91) avec la méthode du Latex en tube. Ces 7 malades étaient séro-positifs et le facteur rhumatoïde a été retrouvé, avec la même méthode, dans leur liquide surnageant.

Cette étude confirme les constatations effectuées par DELBARRE et Coll. En revanche, elle diffère sensiblement des résultats publiés par ASTORGA et BOLLET, qui avaient trouvé du facteur rhumatoïde dans presque tous leurs cas de polyarthrite rhumatoïde, non seulement chez des malades séro-positifs (sérum et surnageant), mais aussi dans des cas

de polyarthrite où le facteur rhumatoïde n'avait pu être décelé dans aucun de ces liquides biologiques. Il faut noter que le test utilisé pour cette recherche était le test au Latex sur lame.

D'autres auteurs (WILLKENS, puis SOLNICA et Coll.), utilisant pour briser les cellules des techniques différentes, ont obtenu des résultats plus fréquemment positifs que les nôtres, mais la constance de positivité de la série d'ASTORGA et BOLLET est loin d'avoir été retrouvée.

4) Nous avons, par ailleurs, cherché à mettre en évidence la présence d'immunoglobulines dans les cellules des liquides synoviaux que nous avons pu étudier.

Au cours de la polyarthrite rhumatoïde, des inclusions d'IgM ont été constatées dans 88 % des cas; des inclusions d'IgG étaient présentes avec une fréquence identique. Des inclusions d'IgA n'ont, par contre, été trouvées que dans 61 % des cas.

Le pourcentage de positivité ne paraît pas fonction de la sérologie plasmatique, puisque nous avons trouvé des chiffres sensiblement identiques dans les polyarthrites séro-positives ou séro-négatives. La même remarque peut être faite à propos de la sérologie du liquide surnageant.

Nos résultats concordent avec ceux publiés par SOLNICA et Coll.(30) qui ont trouvé des pourcentages de positivité du même ordre.

En revanche, VAUGHAN et Coll. (32), n'ont trouvé d'inclusions de Gamma M globuline que 18 fois sur 24 cas de polyarthrite rhumatoïde séro-positif et que 5 fois sur 26 cas de polyarthrite séro-négative.

DELBARRE et Coll. aboutissent à des conclusions un peu différentes. Ils ont en effet constaté des inclusions d'IgM plus fréquemment dans les polyarthrites séro-positives que dans les polyarthrites séro-négatives, où une formule mixte, IgM/IgG a été le plus souvent notée.

Si, donc, certaines études semblent montrer une plus grande fréquence d'inclusions d'IgM dans les formes séro-positives que dans les formes séro-négatives, il reste néanmoins certain que des inclusions d'IgM peuvent être rencontrées dans les formes séro-négatives de la maladie rhumatoïde. Seule la fréquence est discutée.

D'autre part, VAUGHAN et Coll. (32), utilisant des Gamma G globulines agrégées et fluorescentes, ont pu démontrer la présence dans ces leucocytes d'une activité anti-Gamma G. Mais ils n'ont constaté qu'une concordance relative entre l'activité anti-Gamma G des inclusions et la présence de Gamma M globulines, et celle-ci n'a encore été trouvée que pour les formes séro-positives.

Il apparaît donc vraisemblable que, si certaines des immunoglobulines Gamma M ont une activité de facteur rhumatoïde, la signification immunologique des autres IgM reste à préciser.

La possibilité que ces IgM, dépourvues d'activité de facteur rhumatoïde soient, pour une partie, des anticorps anti-nucléaires n'est pas à exclure, puisque BARNETT d'une part, et MAC SWEEN d'autre part, ont trouvé dans plus de la moitié des cas, que les anticorps anti-nucléaires étaient des Gamma M globulines.

La présence de Gamma M globuline n'apparaît pas, en tout cas, spécifique de la polyarthrite rhumatoïde, qu'elle soit séro-positif ou non, puisque nous l'avons constaté au cours d'autres affections (une chondrocalcinose, deux rhumatismes psoriasiques, un cas de rhumatisme articulaire aigu, une goutte et une monoarthrite inflammatoire).

Nous n'avons noté, au cours de l'étude des liquides témoins (arthroses et hydarthroses mécaniques), qu'une seule fois la présence d'une Gamma M globuline.

VAUGHAN et Coll., pour leur part, ont trouvé des inclusions d'IgM au cours d'une arthrose et de deux arthrites inflammatoires, tandis que SOLNICA et Coll. n'ont constaté de fluorescence positive avec l'anti-sérum anti-Gamma M que dans un cas de Lupus et dans une monoarthrite.

La présence d'inclusions cellulaires d'IgA et d'IgG ne nous paraît pas avoir de spécificité, car nous en avons constaté dans un grand nombre d'épanchements articulaires d'étiologies diverses.

-O-O-O-O-O-O-O-O-

CONCLUSIONS

Nous rapportons ici, après une étude préliminaire des données de la littérature sur la nature des inclusions ragocytaires, les résultats de travaux personnels concernant la cytologie et l'immunologie du liquide synovial dans l'arthrite rhumatoïde, portant sur 61 liquides articulaires.

1) La ragocytose

Nous avons constaté la présence de cellules à inclusions avec une fréquence analogue à celle relevée par la majorité des auteurs (100 % dans les polyarthrites séro-positives, 66 % dans les polyarthrites séro-négatives).

2) Le dosage du complément synovial

Les résultats que nous avons obtenus concordent également avec les données de la littérature, puisque dans plus de 80 % des liquides synoviaux rhumatoïdes, le taux de complément a été trouvé très abaissé, voire nul.

3) La recherche du facteur rhumatoïde dans les cellules synoviales

Cette recherche n'a pas donné les résultats que nous en espérions. Seuls sept homogénats cellulaires sur les quatre vingt onze étudiés présentèrent une réponse faiblement positive avec le test au Latex, la réaction de Waaler-Rose restant toujours négative.

4) Recherche des globulines intra-cellulaires en immuno-fluorescence

La présence d'inclusions d'IgA et d'IgG, constatée dans la majorité des liquides inflammatoires étudiés, n'est pas considérée comme

spécifique de la maladie rhumatoïde.

En revanche, si la présence d'IgM dans un liquide articulaire ne peut être considérée comme absolument spécifique de la maladie rhumatoïde, (nous en avons constaté dans quelques liquides goutteux, psoriasiques ou de chondrocalcinose), elle semble néanmoins traduire un processus immunitaire local, comme celui que l'on rencontre dans l'arthrite rhumatoïde.

La constatation d'inclusions d'IgM dans les cellules articulaires peut donc, puisque nous en avons trouvé dans 88 % des polyarthrites rhumatoïdes étudiées séro-positives ou séro-négatives, être un élément d'orientation vers le diagnostic d'arthrite rhumatoïde, quand les données cliniques ou sérologiques font défaut.

-o-o-o-o-o-o-o-

Vu le Président de Thèse

Vu le Doyen de la Faculté

Pr. S. DE SEZE

G. BROUET

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

M. J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

- 1-ASTORGA (G) et BOLLET (AJ):Diagnostic specificity and possible pathogenic signifiacnce of inclusions in synovial leukocytes.
Arth. and Rheumat. 1965,8,511-523
- 2-BARNETT (EV), BIENENSTOCK (J) and BLOCH (KJ). Antinuclear factors in synovia. Possible participants in the rheumatoid inclusion body.
JAMA,1966,Oct 10, Vol 198,n° 2, p 143
- 3-BARNHART (MI),RIDDLE (JM) and BLUHM (GB). Immunocytology in arthritic joints.
Ann. of Rheumat. diseases, 1967,Vol 26, n° 4, p 281
- 4-BLOCH-MICHEL (H), BENOIST (M) et RIPAULT (J). Biopsie synoviale: étude cytologique et immunologique du liquide articulaire dans les arthrites rhumatoïdes. B.M. Soc. Méd.Hôp. Paris, 1966,II7,n°13, 1305-1316
- 5-BLOCH-MICHEL (H), BENOIST (M) et RIPAULT (J). Etude cytologique et immunologique du liquide synovial dans la maladie rhumatoïde.
Press. Méd.,18 Mars 1967,75,n° 13, 645-650
- 6-BLUHM (GB), RIDDLE (JM) and BARNHART (MI). Signifiacnce of fibrin and other particulates in rheumatoid joint inflammation.
Henry Ford Hosp. Bull., Vol 14,June 1966, 119-129
- 7-DELBARRE (F),KAHAN (A),AMOR (B) et KRASSININE (G). Etude clinique et expérimentale de la ragocytose synoviale.Intérêt pour le diagnostic et l'étude pathogénique des rhumatismes inflammatoires.
Path. Biol., 1966,14, 810-815
- 8-FISH (AJ),MICHAEL (AF),GEWARZ (H), et GOOD (RA). Immunopathologic arthritis synovium. Arth. and Rheumat., 19 66,9, 267-280
- 9-FOSTIROPOULOS (G), AUSTEN (KF) et BLOCH (KJ). Complement hémolytique total et second composant de l'activité du complément dans le sérum et le liquide synovial de malades rhumatisants. Arth. and Rheumat.,1964,7,n°3,308
- 10-HEDBERG (H). Etude de la diminution de l'activité hémolytique du complément du liquide synovial chez les adultes atteints de rhumatismes articulaires.
Acta Rheumat. Scand.,1963,9,n°3,165-193
- 11-HAMERMAN (D).Views on the pathogenesis of rheumatoid arthritis.
Med. Clin. of North Amer. 1968,52,n°3, 593-605
- 12-HOLLANDER (JL),MAC CARTY (DJ) et RAWSON (AJ). The "RA cell","ragocyte" or "inclusion body cell". Bulletin of rheumatic diseases,1965,16,382-383
- 13-HOLLANDER (JL),MAC CARTY(DJ),ASTORGA (GA) et CASTRO-MURILLO (E)
Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation. The "RA cell" and a working hypothesis. Ann. Int. Med.,1965,62,271-280
- 14-KRASSININE (G). Le ragocyte synovial;Thèse (Méd).Paris,1965,Ronéo, 87p
- 15-MAC SWEEN (RM), DALAKOS (TK),JASANI (MK),WILSON (ME) et BOYLE (JA)
Antinuclear factors in synovial fluids. The Lancet,1967,n° 7485,312-314
- 16-MALININ (TI),PEKIN (TJ),BAUER (H),and ZVAIFLER (NJ). Vacuoles in synovial fluid leukocytes. Amer.J. of Clin. Pathol.,1966,45,n° 6,728-731
- 17-MALININ (TI),PEKIN (TJ),BAUER (H), and ZVAIFLER (NJ). Intracytoplasmic and extracellular particles in rheumatoid synovial fluids.
Arth. and Rheumat.,1964,7,743

- 18-MELLORS(RC),HEIMER(R),CORCOS(J) and KORNGOLD(L). Cellular origin of rheumatoid factor. J. Exp. Med., 1959, 110, 875-886
- 19-MELLORS(RC),NOWOLASKI(A),KORNGOLD(L) and SENGSON(BC)
Rheumatoid factor and pathogenesis of rheumatoid arthritis
J. Exp. Med., 1961, 113, 475-484
- 20-NOWOLAWSKI(A) and BRZOSKO(WJ). Immunopathology of rheumatoid arthritis. The rheumatoid synovitis. Pathol. Europ. (Belge), 1967, 2, 198
- 21-MITROVIC et SOLNICA(J). Cytochimie comparative et ultra-structurale des inclusions des liquides synoviaux des divers rhumatismes inflammatoires. Sem. Hôp. Paris, 1967, 42, 7, 2561-2572
- 22-PEKIN (TJ) et ZVAIFLER(NJ) Hemolytic complement in synovial fluid
J. Clin. Invest., 1964, 43, 1372-1382
- 23-PEKIN(TJ),BAUER(H),et ZVAIFLER(NJ). Clinical significance of DNA particles in synovial fluid. Arth. and Rheumat., 1965, 8, 461
- 24-PELTIER(A),COSTE(F) et DELBARRE(F). Etude sur le complément hémolytique dans certaines maladies ostéo-articulaires. Press. Méd., 1966, 74, 1523-1528
- 25-PELTIER(A),DELBARRE(F) et KRASSININE(G). Haemolytic complement level and ragocyte (RA cell) concentration in synovial fluid.
Ann. of Rheumat. Diseases, 1967, vol 26, n°6, 528
- 26-RAWSON(AJ),ABELSON(NM) et HOLLANDER(JL). Studies on the pathogenesis of rheumatoid joint inflammation. Intracytoplasmic particulate complexes in rheumatoid synovial fluids. Ann. Int. Med., 1965, 62, 281-285
- 27-RESTIFO(RA),LUSSIER(AJ),RAWSON,ROCKEY(JH) et HOLLANDER (JL)
The experimental production of arthritis by intra-articular injection of purified 7 S gamma-globulins. Ann. of Int. Med., 1965, 62, 285-291
- 28-RODMAN(WW),WILLIAMS(RC),BILKA(PJ) and MULLER-EBERHARD(JH)
Immunofluorescent localization of bêta 10 and bêta 12 globulin complement components in synovial tissues from rheumatoid arthritis patients.
Arth. and Rheumat., 1964, 7, 749
- 29-SOLNICA(J),KAHN(MF),et DE SEZE (S). Cyto-immunologie des liquides articulaires au cours des rhumatismes inflammatoires.
J. Belge Rhumat. Méd. Phys., 1967, 22, 208-215
- 30-SOLNICA(J) et Coll. Etudes immunologiques sur les liquides synoviaux. Recherche du facteur rhumatoïde, des immuno-globulines intra-leucocytaires et des anticorps antinucléaires et anti-constituants du noyau.
Rev. Rhumat., Juin 1968, 35, n°6, 312-321
- 31-VAUGHAN(JH),BARNETT(EV) et SOBEL(M). Cytoplasmic inclusions of gammaglobulin in rheumatoid arthritis and other diseases. Arth. & Rheumat., 1966, 9, 548
- 32-VAUGHAN(JH),JACOX(RF),et NOELL(P). Relation of intra-cytoplasmic inclusions in joint fluid leukocytes to anti-Gamma G globulins.
Arth. & Rheumat., 1968, 11, n°2, 135-144
- 33-VAUGHAN(JH),BARNETT(EC),SOBEL(M) et JACOX(RF). Intracytoplasmic inclusions of immunoglobulins in rheumatoid arthritis and other diseases.
Arth. & Rheumat., 1968, 11, n°2, 125-134
- 34-VAZQUEZ(JJ) & DIXON(FJ). Immuno-histochemical study of lésions in rheumatoid fever and Rheumatoid arthritis. Lab. Invest, 1957, 6, 205
- 35-WILLKENS(RF) and HEALEY(LA). The non specificity of synovial leukocyte inclusions. J. Lab. & Clin. Med., 1966, 68, 628-634
- 36-ZUCKER-FRANKLN(I) The phagosomes in rheumatoid synovial fluid leukocytes.

